Aus der Medizinischen Klinik C der Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. H.L. Krüskemper

DER EINFLUSS DER SCHILDDRÜSENSTOFFWECHSELLAGE AUF DEN ANSTIEG DES CYCLISCHEN AMP IM PLASMA NACH GLUKAGONINJEKTION

D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

J o c h e n H e i m e s

1 9 8 0

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543926_0114

Aus der Medizinischen Klinik C der Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. H.L. Krüskemper

DER EINFLUSS DER SCHILDDRÜSENSTOFFWECHSELLAGE AUF DEN ANSTIEG DES CYCLISCHEN AMP IM PLASMA NACH GLUKAGONINJEKTION

D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

J o c h e n H e i m e s

1 9 8 0

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. Krüskemper

Referent
gez. Prof. Dr. Herrmann

Korreferent
gez. Prof. Dr. Gries

Meinen Eltern gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I. Einleitung 5

II. Methodik 7

III. Ergebnisse 10

IV. Diskussion 19

V. Zusammenfassung 26

VI. Literaturverzeichnis 29

I. EINLEITUNG

Seit Rall und Sutherland 1957 (25) erstmals die Rolle des 3',5'-Monophosphat (cyclisches AMP) in der Phosphorylaseaktivierung beschrieben hatten, ist eine Vielzahl von Arbeiten über die Bedeutung des cAMP‡ erschienen und inzwischen hat die Bestimmung des cAMP u.a. einen festen Platz in der Diagnostik des Hypoparathyreoidismus.

Über den Einfluß von Glukagon auf das cAMP-System berichteten zuerst Sutherland und Mitarbeiter 1966 (29). 1970 konnten Broadus et al (2) einen Anstieg des cAMP-Plasmaspiegels nach Glukagoninjektion beim Menschen nachweisen. 1973 zeigten Campbell und Mitarbeiter (6), daß der glukagoninduzierte cAMP-Anstieg in Rattenleberorgankulturen durch Präinkubation mit Schilddrüsen-Hormonen erheblich verstärkt werden konnte. Die daraufhin naheliegende Frage, ob der cAMP-Anstieg im Plasma des Menschen nach Glukagoninjektion möglicherweise auch durch die Schilddrüsenstoffwechsellage beeinflußt wird, untersuchten Elkeles, Lazarus et al 1974 (11). Ihre Untersuchungsergebnisse an 9 hyperthyreoten und 5 hypothyreoten sowie 10 euthyreoten Patienten zeigten einen deutlichen Unterschied im cAMP-Anstieg der untersuchten Kollektive. In der Folgezeit erschienen mehrere- teilweise widersprüchliche- Arbeiten zu der gleichen Fragestellung(14, 19, 22, 15).

Eine exakte Untersuchung des Einflusses der Schilddrüsenstoffwechsellage auf den glukagoninduzierten cAMP-Anstieg ist nicht nur von theoretischem, sondern auch praktischem physiologischen Interesse, da diesem sog. Glukagontest möglicherweise eine Bedeutung in der Diagnostik von Hyper- und Hypothyreose zukommen könnte.

---

‡) Abkürzungen: cAMP = cyclisches Adenosin 3,5-Monophosphat
T_3 = L - Trijodthyronin
T_4 = L - Thyroxin
TSH = Thyreoidea Stimulating Hormon
EDTA = Äthylen-diamin-tetra-acetat

Unter Hyperthyreosen werden - nach der Definition der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie - Krankheitsbilder verstanden, bei denen in der Peripherie ein Überschuß an Schilddrüsenhormon vorliegt. Entsprechend ist eine Hypothyreose durch einen Mangel an Schilddrüsenhormon in der Peripherie gekennzeichnet. Unter Peripherie sollten im strikten Sinne die hormonsensitiven peripheren Gewebe aufgefaßt werden, in denen beim Menschen der Hormonüberschuß bzw. -mangel nicht direkt nachgewiesen werden kann. In diesem Sinne stellen Hormonkonzentrationen im Blut lediglich indirekte Parameter zur Beurteilung der Schilddrüsenstoffwechsellage dar. Aus diesem Grunde wird z.Zt. intensiv nach einem praktikablen und verläßlichen Verfahren gesucht, das, wie der Grundumsatz, Rückschlüsse auf die Wirkung von Schilddrüsenhormon an den peripheren Geweben ermöglicht. Mit der hier vorliegenden Arbeit soll u.a. die Frage beantwortet werden, ob der sog. Glukagontest ein soches Verfahren darstellt.

II. METHODIK

a) Patienten

Untersucht wurden 36 Patienten mit einer Hyperthyreose, 35 Patienten mit einer Hypothyreose, 24 Patienten mit einer blanden Struma und 26 Normalpersonen. Neben Anamnese und klinischem Befund wurden zur Diagnostik von Hyper- und Hypothyreose noch das in unserem Labor routinemäßig bestimmte T_3, T_4 und TSH im Serum herangezogen. Bei allen Patienten lag außerdem ein Schilddrüsenscintigramm vor. Patienten und untersuchte Normalpersonen wurden über die Art der Untersuchung vorher informiert und hatten ihr Einverständnis erklärt.

Von den hyperthyreoten Patienten waren 32 weiblich und 4 männlich, im Alter zwischen 15 und 73 Jahren bei einem Durchschnittsalter von 48 Jahren. Das mittlere Serum-T_3 lag bei 537 ng% bei einer Standardabweichung von 239 ng% (Normalbereich 60 - 200 ng%). Die mittlere T_4-Konzentration in dieser Gruppe wurde mit 17,2 ug% bei einer Standardabweichung von 7,2 ug% bestimmt (Normalbereich 5 - 14 ug%). Die hohe Standardabweichung der T_4-Werte bei hyperthyreoten Patienten wird dadurch erklärt, daß ein Teil dieser Gruppe durch isolierte T_3-Hyperthyreosen repräsentiert wird. Das TSH lag bei $1,5 \pm 0,9$ uU/ml (obere Normgrenze: 4 uU/ml).

26 der hypothyreoten Patienten waren weiblich und 9 männlich. Das Alter lag zwischen 18 und 85 Jahren, das Durchschnittsalter betrug 46 Jahre. In dieser Gruppe haben wir ein T_3 von 64 ± 53 ng%, ein T_4 von $2,7 \pm 1,9$ ug% und ein TSH von $30,0 \pm 13,9$ uU/ml gemessen.

Als Normalpersonen untersuchten wir 16 Frauen und 10 Männer im Alter zwischen 22 und 71 Jahren bei einem Durchschnittsalter von 45 Jahren. Folgende Mittelwerte bzw. Standardabweichungen wurden ermittelt: T_3 136 ± 19 ng%, T_4 $8,1 \pm 2,4$ ug% und TSH $1,4 \pm 0,9$ uU/ml. Der fehlende Unterschied der gemessenen TSH-Werte bei den Normalpersonen und den hyperthyreoten Patienten spiegelt die bekannte Unsicherheit der TSH-Radioimmunoassay im unteren Meßbereich wider.

Die in den einzelnen Kollektiven gemessenen T_3, T_4 und TSH-Werte sind in Abbildung 1 zusammengefaßt.

	ALTER	T_3 (ng%)	T_4 (µg%)	TSH (uU/ml)
NORM	45 ± 16	136±19	8,1±2,4	1,4±0,9
HYPO	46 ± 17	64±53	2,7±1,9	30±13,9
HYPER	48 ± 15	537±239	17,2±7,2	1,5±0,9

Abb. 1: Alter, T_3-, T_4- und TSH-Spiegel bei Normalpersonen und bei hypo- und hyperthyreoten Patienten

Von den untersuchten Patienten mit einer blanden Struma waren 17 Frauen und 7 Männer im Alter zwischen 20 und 74 Jahren bei einem Durchschnittsalter von 45 Jahren. Hier lag das T_3 bei 155 $\pm$ 55 ng%, das T_4 bei 8,4 $\pm$ 2,4 ug% und das TSH bei 1,6 $\pm$ 1,1 uU/ml.

Der Glukagontest wurde an 18 hyper- und 7 hypothyreoten Patienten, die nach Behandlung sowohl klinisch als auch laborchemisch eine normale Schilddrüsenstoffwechsellage aufwiesen, wiederholt. Das T_3 der ehemals hyperthyreoten Patienten lag jetzt bei 140 $\pm$ 44 ng% und das T_4 bei 8,8 $\pm$ 4,1 ug%. Bei den vorher hypothyreoten Patienten wurde nach der Behandlung mit Schilddrüsenhormon ein T_3 von 134 $\pm$ 40 ug% und ein T_4 von 9,6 $\pm$ 3,0 ug% gemessen.

b) Versuchsablauf

Den Normalpersonen und den Patienten mit Schilddrüsenerkrankungen wurde in nüchternem Zustand Blut aus der Cubitalvene zur Bestimmung des basalen cAMP-Spiegels, des T_3, T_4 und des TSH entnommen. Danach injizierten wir 1 mg Glukagon und entnahmen 15 Minuten später erneut 5 ml Blut zur Bestimmung des cAMP-Spiegels.
Das Blut wurde sofort nach der Entnahme in vorbereitete Röhrchen mit 50 ul 0,5 M EDTA-Lösung (zur Hemmung der Phosphodiesterase) gefüllt und zentrifugiert, das Plasma bis zur Bestimmung des cAMP bei -20^{o} aufbewahrt.

c) Bestimmung

Die Bestimmung des cAMP erfolgte durch den "Radiochemical Centre cyclic AMP assay kit" der Firma Amersham. Das Prinzip dieses Proteinbindungsassays besteht in der Konkurrenz zwischen unmarkiertem cAMP und einer definierten Menge von Tritium-markiertem cAMP um die Bindung an ein Protein, das durch eine hohe Spezifität und Affinität zu cAMP gekennzeichnet ist. Die Menge der gebildeten markierten Protein-cAMP-Komplexe verhält sich umgekehrt proportional zu der Menge des unmarkierten cAMP, die sich im Ansatz befindet.

Die Trennung der freien von den gebundenen markierten Nucleotiden erfolgt durch Adsorption an Aktivkohle und anschließende Zentrifugation. Nach der Zentrifugation wird aus den Überständen ein definiertes Volumen entnommen und die Radioaktivität in einem Flüssigkeitsscintillator ermittelt. Mittels der gemessenen Radioaktivität der proteingebundenen markierten cAMP-Moleküle läßt sich dann an Hand einer Standardkurve die Konzentration von unmarkiertem cAMP in der Testlösung ermitteln.

Um im optimalen Bereich der Standardkurve ablesen zu können, wurden die 15 Minuten nach Glukagoninjektion gewonnenen Seren 1:3 mit Pufferlösung verdünnt. Die Inter- und Intraassayvarianz beträgt bei diesem Proteinbindungsassay unter 7 %.

Die Signifikanz zwischen den einzelnen Kollektiven bezüglich des cAMP-Anstiegs 15 Minuten nach Glukagon-Injektion wurde mittels des student-t-Testes ermittelt.

III. ERGEBNISSE

Wir untersuchten zunächst die basale Plasma-Konzentration des cAMP bei 26 Normalpersonen, 35 Hypo-, 36 Hyperthyreosen und 24 Patienten mit blander Struma.

Beim Vergleich dieser Kollektive zeigten sich -wie Abb. 2 verdeutlicht- zwischen den Euthyreosen (12 $\pm$ 9 pmol/ml) und den Hypothyreosen (10 $\pm$ 5 pmol/ml) kein wesentlicher Unterschied. Der Mittelwert bei den hyperthyreoten Patienten lag zwar deutlich höher (25 $\pm$ 12 pmol/ml), jedoch bestanden zwischen der letzteren Gruppe und der der Normalpersonen große Überschneidungen.

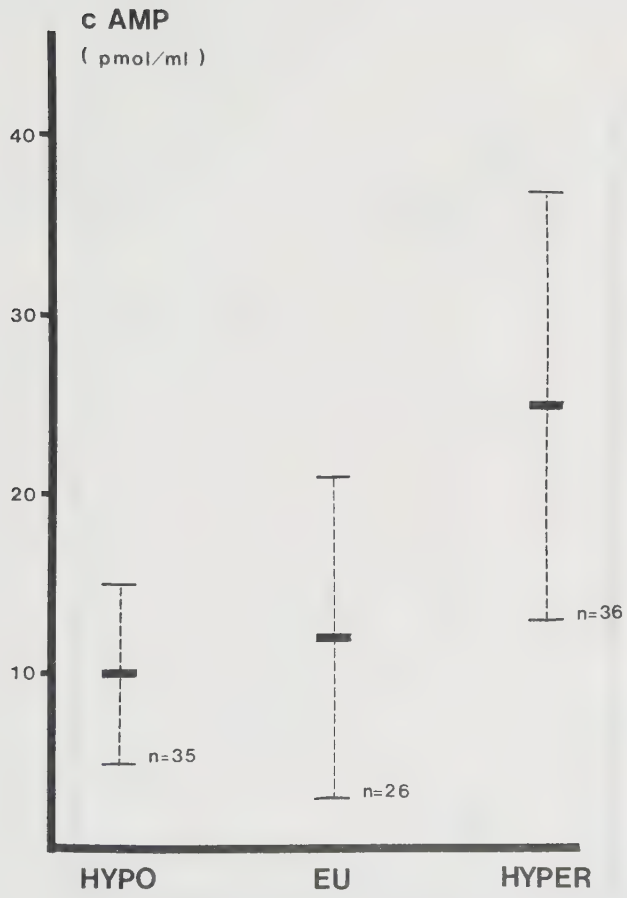

Abb. 2: Basale Plasma-Konzentration des cAMP bei Normalpersonen(EU) und bei Hypo- und Hyperthyreoten

Abb. 3 zeigt die Einzelergebnisse der Bestimmung des cAMP im Plasma 15 Minuten nach Glukagon-Injektion. In Abb. 4 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der Glukagonstimulierten cAMP-Spiegel dargestellt.

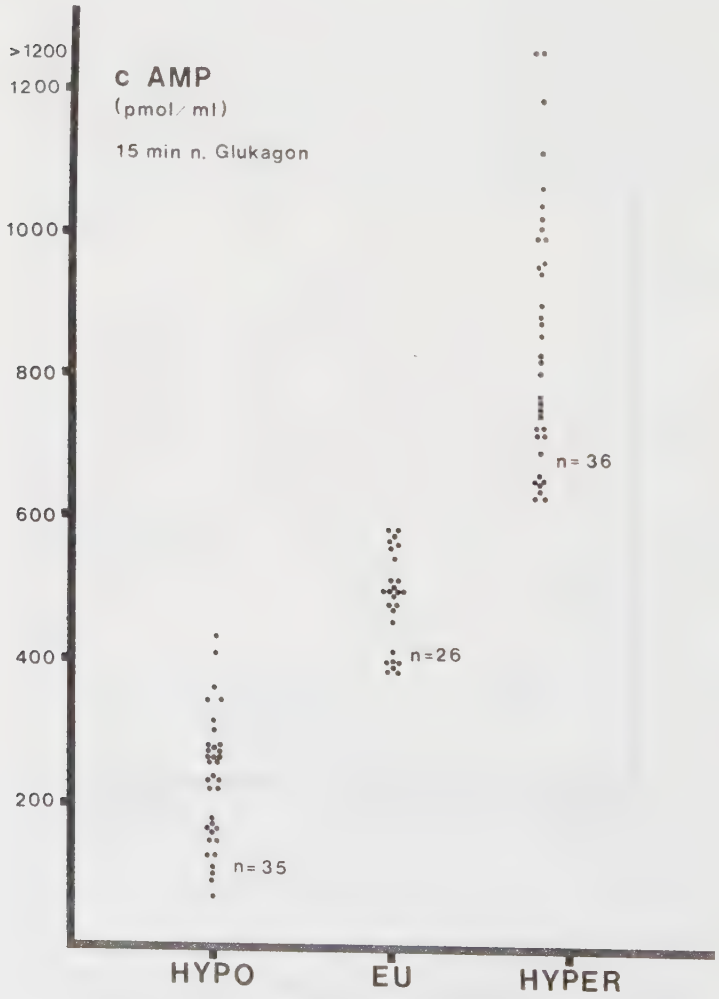

Abb.3: Einzelergebnisse der Bestimmung der 15'-Plasma-cAMP-Konzentrationen bei Normalpersonen (EU), Hypo- und Hyperthyreoten

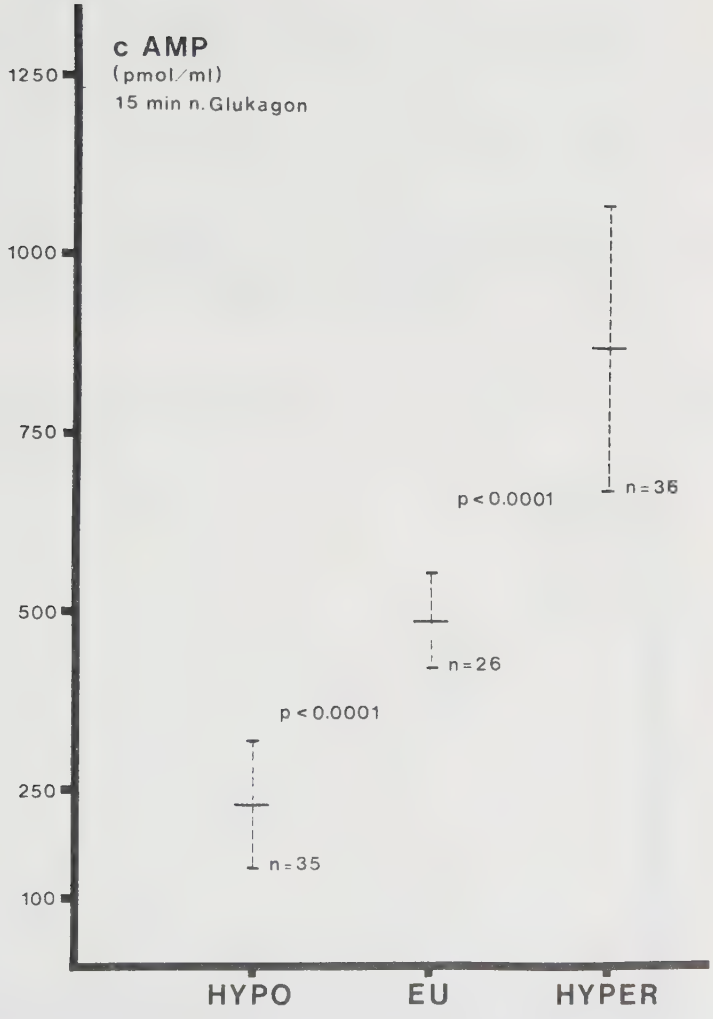

Abb. 4: Mittelwerte und Standardabweichungen der 15'-Plasma-cAMP-Konzentrationen bei Normalpersonen (EU), Hypo- und Hyperthyreoten

Bei allen Kollektiven stellten wir einen deutlichen Anstieg des cAMP-Spiegels fest. Dieser war jedoch bei den Hyperthyreoten (871 $\pm$ 199 pmol/ml) signifikant größer als bei den Normalpersonen (483 $\pm$ 66 pmol/ml). Überlappungen der Einzelwerte zwischen diesen Bereichen traten nicht auf. Bei den hypothyreoten Patienten wiederum war er gegenüber dem Normalkollektiv deutlich erniedrigt (229 $\pm$ 91 pmol/ml).

Zwei der hypothyreoten Patienten hatten allerdings trotz deutlich hypothyreoter Stoffwechsellage (T_3 : 7 bzw. 26 ng%, T_4 : 0,7 bzw. 0,6 ug%) einen 15 Minuten-cAMP, der dem des Normalkollektivs vergleichbar war (436 bzw. 407 pmol/ml).

Abb. 5 vergleicht den glukagoninduzierten cAMP-Anstieg im Plasma bei 24 Patienten mit blander Struma mit dem des Normalkollektivs.

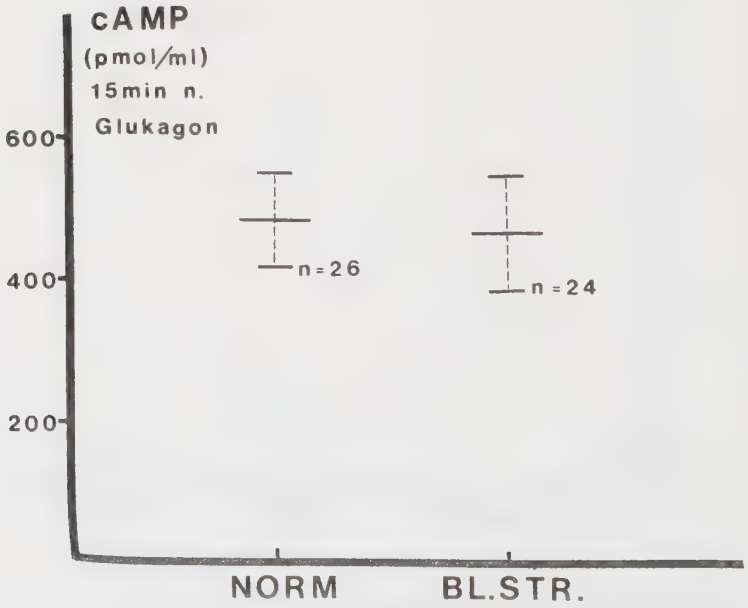

Abb. 5: Mittelwerte und Standardabweichungen der Plasma-cAMP-Konzentrationen 15 Minuten nach Glukagon-Injektion bei Normalpersonen und Patienten mit blander Struma

Die Patienten mit blander Struma weisen einen 15-Minuten-Wert (469 ± 92 pmol/ml) auf, der mit denen des Normalkollektivs vergleichbar ist.

Bei 18 hyperthyreoten Patienten, die thyreostatisch behandelt worden waren, wurde - nach Erreichen einer normalen Schilddrüsenstoffwechsellage - der Glukagon-Test wiederholt. Alle 18 Patienten wiesen nach Behandlung einen 15-Minuten-cAMP-Spiegel auf, der innerhalb des 2-s-Bereiches des Normalkollektivs (351 - 615 pmol/ml) lag (Abb. 6).

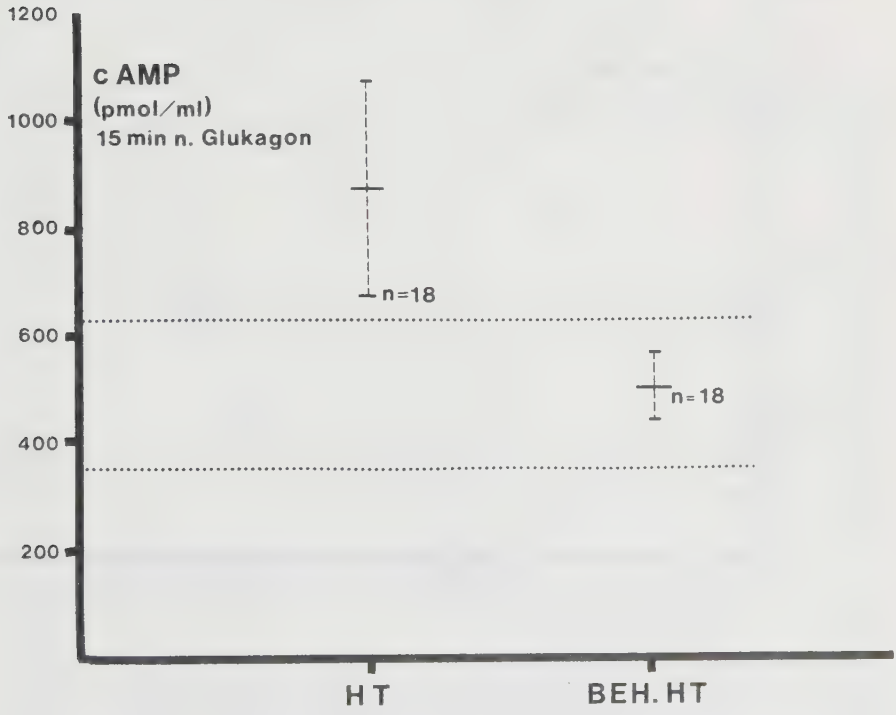

Abb. 6: Mittelwert und Standardabweichung der Plasma-cAMP-Konzentrationen 15 Minuten nach Glukagon-Injektion bei 18 hyperthyreoten Patienten vor und nach thyreostatischer Therapie. Die gepunktete Linie zeigt den 2-s-Bereich des Normalkollektivs.

Bei allen 7 hypothyreoten Patienten, die nach Substitutionstherapie und Anstieg der Schilddrüsen-Hormonwerte in den Normbereich erneut getestet wurden, stiegen die Glukagon-stimulierten cAMP-Konzentrationen deutlich höher an als vor der Behandlung (Abb. 7). Bei 6 Patienten lagen sie nun innerhalb des 2-s-Bereiches des Normalkollektivs, bei einem geringfügig darüber.

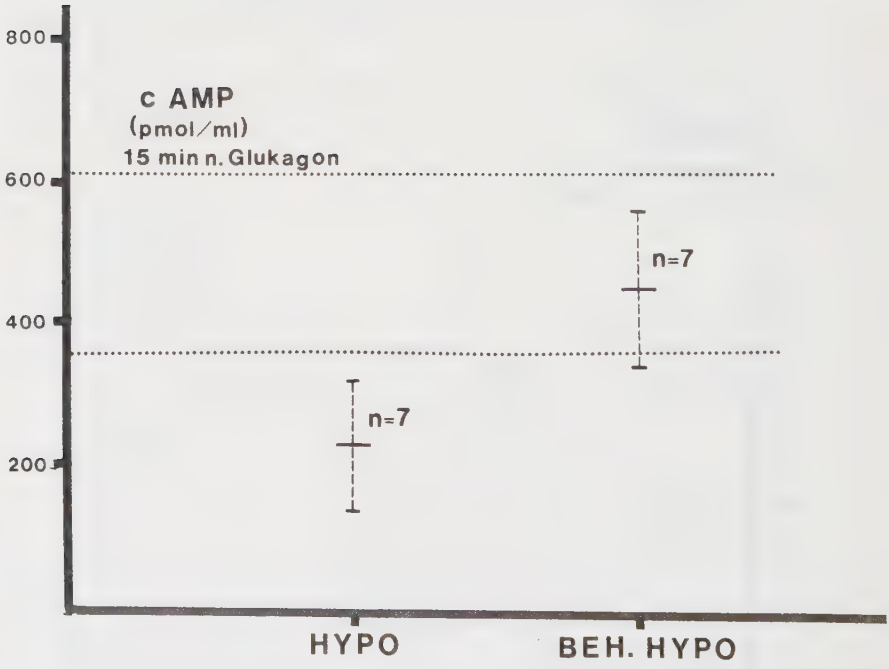

Abb. 7: Plasma-cAMP-Konzentrationen 15 Minuten nach Glukagon-Injektion bei 7 hypothyreoten Patienten vor und nach Substitutionstherapie. Gepunktete Linie zeigt den 2-s-Bereich des Normalkollektivs.

In der Abb. 8 sind die T_3- und T_4-Konzentrationen im Blut sowie das glukagonstimulierte cAMP bei einem Patienten mit einer T_3-Hyperthyreose unter thyreostatischer Therapie dargestellt. Die Normbereiche der T_3- und T_4-Konzentrationen sowie der 2-s-Bereich der cAMP-Spiegel bei den Normalpersonen sind durch Doppellinien an den Ordinaten gekennzeichnet. Eine Woche nach Therapiebeginn mit 3 x 20 mg Methimazol (Favistan ^{R}) sind sowohl das T_3 als auch der glukagonstimulierte cAMP-Spiegel bereits deutlich abgesunken. Der 15'-cAMP-Spiegel liegt 3 Wochen nach Therapiebeginn entsprechend den subnormalen T_4-Werten im hypothyreoten Bereich, steigt jedoch unter der zusätzlichen Therapie mit 100 ug L-Thyroxin pro die wieder in den Normbereich an.

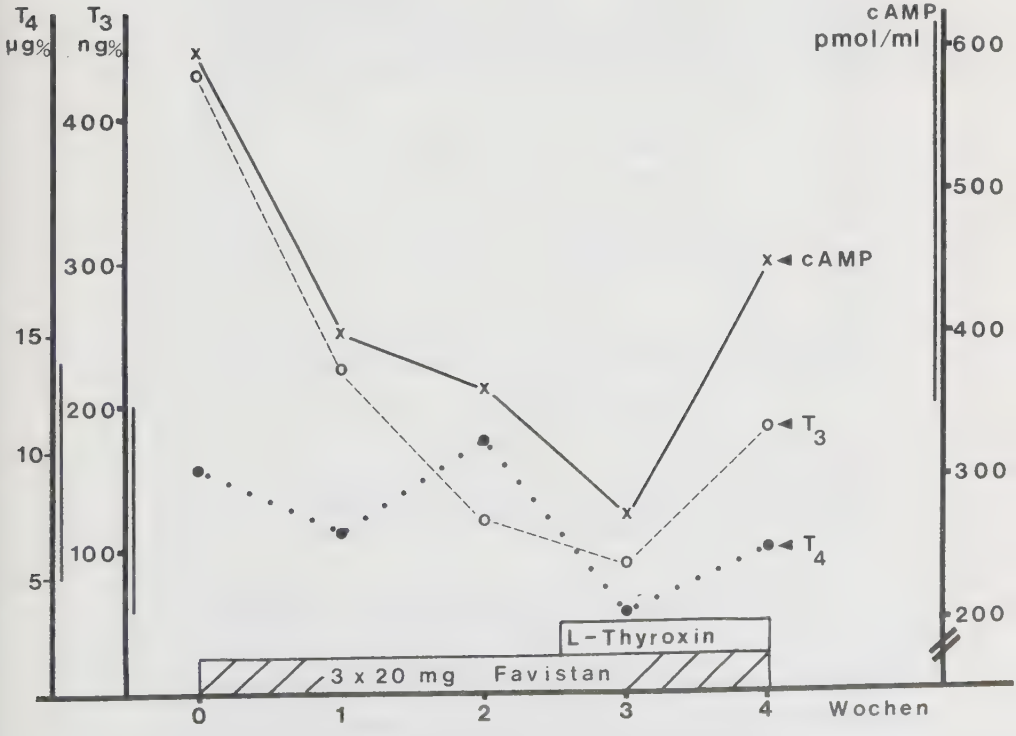

Abb. 8: Plasma-Spiegel von T_3, T_4 und glukagonstimuliertem 15-Minuten-cAMP im Behandlungsverlauf einer T_3-Hyperthyreose.

Wir untersuchten außerdem 4 Patienten mit dekompensierter Lebercirrhose. Die glukagonstimulierten cAMP-Spiegel (222 $\pm$ 65 pmol/ml) lagen bei allen 4 Patienten deutlich unterhalb derjenigen der Normalpersonen.

Bei einem Patienten mit Verschlußikterus fanden wir einen 15-Minuten-cAMP-Anstieg, der mit 954 pmol/ml weit oberhalb der Werte der Normalpersonen lag.

IV. DISKUSSION

Entsprechend der Theorie von Sutherland (29) werden die biologischen Effekte vieler Hormone dadurch vermittelt, daß nach Bindung des Hormons an einen Rezeptor der Zellmembran mit nachfolgender Aktivierung der Adenylcyclase zelluläres ATP zu cyclischem AMP umgewandelt wird. Das cAMP bewirkt dann über kettenartig ablaufende Phosphorylierungen eine Änderung der Zellfunktion (Abb. 9).

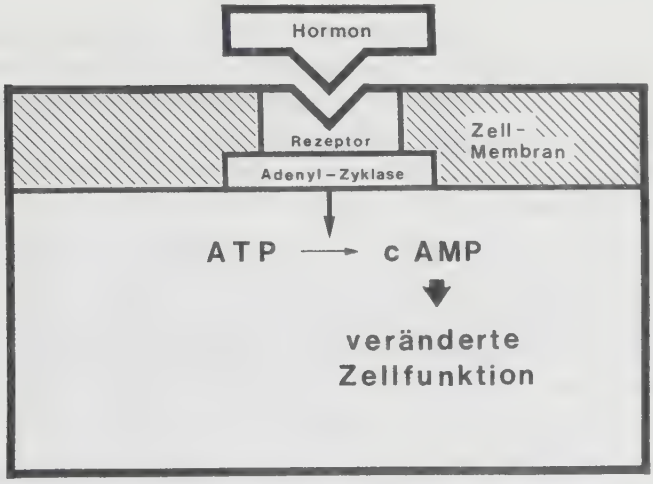

Abb. 9: Modell zur Wirkung des cAMP als "second messenger" (modifiziert nach Sutherland)

Im Einzelnen sollen die Prozesse wie folgt ablaufen:

In der Zellmembran ist das Enzym Adenylcyclase lokalisiert, das aus einer Rezeptor-Untereinheit und einer Katalysatorkomponente besteht. Der Rezeptor ist hormonspezifisch, d.h. er reagiert nur mit dem Hormon (z.B. Glukagon), das für die jeweilige Zellfunktion von Bedeutung ist (20). Die Katalysatorkomponente der

Adenylcyclase bewirkt die Umwandlung des ATP zu cAMP, welches nun als sog. "second messenger" fungiert. Durch cAMP, zusammen mit ATP und Proteinkinasen, werden Proteine phosphoryliert und damit in die biologisch aktive Form umgewandelt (20, 26). Mit einem intrazellulären Anstieg des cAMP steigt auch das cAMP im Plasma an, da die Zellwand für cAMP durchlässig zu sein scheint. Die Plasmakonzentrationen sind jedoch stets erheblich niedriger als die intrazellulären, so daß die Spezifität der hormonellen Wirkung gewahrt bleibt (20). Der Abbau des cAMP erfolgt durch die ubiquitäre Phosphodiesterase, durch die cAMP zu 5'-AMP umgewandelt wird (4).

Die Aktivität der Phosphodiesterase kann durch verschiedene Pharmaka (z.B. Coffein, Theophyllin, EDTA) gehemmt werden (20). Das cyclische AMP wird glomerulär filtriert, seine Plasmahalbwertzeit beträgt etwa 30 Minuten, die Plasmaclearance etwa 700 ml/min, wobei ca. 130 ml auf die glomeruläre Filtration und die restlichen 570 ml auf extrarenale Gewebe entfallen (20).

Broadus (3) konnte zeigen, daß verschiedene Hormone die Plasma- und Urinkonzentration des cAMP verändern können. So bewirkt Glukagon einen bis zu 30-fachen Anstieg der Plasmakonzentration und einen vergleichbar großen Anstieg der Urinkonzentration. Durch die Gabe von Calcitonin und ß-Rezeptorenstimulatoren kann der cAMP-Plasmaspiegel auf das 2-3-fache des Ausgangswertes gesteigert werden.

Daß das Glukagon die Bildung von cAMP in der Leber stimuliert, konnten Rall und Mitarbeiter (25) bereits 1957 nachweisen. Markmann (23), Robinson (27) und Exton (12) kamen zu dem gleichen Ergebnis. Broadus(2) infundierte 1970 erstmals Glukagon zur cAMP-Bestimmung beim Menschen (25-200 mg/kg KG/min) und Elkeles (11) injizierte 1974 eine konstante Dosis von 1 mg.

Auch wir entschieden uns in Übereinstimmung mit anderen Arbeitsgruppen (19, 15, 16) für die Menge von 1 mg Glukagon nach entsprechenden Vorversuchen mit 0,5 mg, die offensichtlich bei adipösen Patienten für eine optimale Stimulation nicht ausreichten .
Durch Voruntersuchungen mit Blutentnahmen nach 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90 und 180 Minuten nach Glukagoninjektion konnten wir zeigen, daß das cAMP 15 Minuten nach Glukagongabe ein Maximum erreicht, so daß bei späteren Versuchen auf die anderen Entnahmen verzichtet wurde.

Dies stimmt mit den Ergebnissen von Elkeles (11), Liljenquist (21), Lazarus (19) und Guttler (15) überein.

Karlberg (17) wies 1974 auf signifikante Unterschiede in den basalen Plasma-Konzentrationen des cAMP zwischen Hypothyreoten, Normalpersonen und Hyperthyreoten hin. Unsere Untersuchungen an einem erheblich größeren Kollektiv konnten dies - wie auch die meisten der anderen in der Folgezeit erschienenen Arbeiten (11, 14, 19, 22, 15) - nicht bestätigen.

Hinweise dafür, daß der Glukagon-induzierte cAMP-Anstieg durch Schilddrüsen-Hormone beeinflußt wird, ergaben sich 1973 erstmals durch die Arbeit von Campbell & Kane-Maguire (6). Diese Autoren konnten mit Versuchen an isolierten Rattenleber-Organkulturen nachweisen, daß der Glukagon-induzierte cAMP-Anstieg durch eine Präinkubation mit T_3 und T_4 gesteigert werden kann. Elkeles (11) untersuchte daraufhin erstmals die naheliegende Frage, ob der Glukagon-induzierte cAMP-Anstieg im Plasma des Menschen von der Schilddrüsen-Stoffwechsellage abhängig ist. Er fand die cAMP-Reaktion auf Glukagon bei hypothyreoten Patienten abgeschwächt und bei Hyperthyreoten gesteigert im Vergleich zu Normalpersonen.

In der Folgezeit untersuchten mehrere Autoren entsprechende Kollektive mit der gleichen Fragestellung.
Guttler (14) führte den Test 1975 an 4 hypo- und 4 hyperthyreoten Patienten sowie 5 Normalpersonen durch. Dabei fand er - im Gegensatz zu Elkeles - bei den Hypothyreoten glukagoninduzierte cAMP-Konzentrationen, die denen des Normalkollektivs entsprachen. Die Hyperthyreoten zeigten auch bei Guttler erhöhte 15-Minuten-cAMP-Werte.
Lazarus (19) testete 1976 20 hypo-, 7 hyper- sowie 19 euthyreote Patienten. Madsen (22) stellte 1977 Kollektive von 14 Hypo- und 13 Hyperthyreoten einer Gruppe von 17 Normalpersonen gegenüber. Beide Forscher bestätigten Elkeles' Ergebnis, indem sie bei Patienten mit Hypothyreose erniedrigte und bei solchen mit Hyperthyreose erhöhte Plasma-cAMP-Konzentrationen 15 Minuten nach Glukagon-Injektion nachwiesen.

Lazarus untersuchte sein Kollektiv - nach Therapie und Erreichen einer normalen Schilddrüsen-Stoffwechsellage - erneut. Nun fand er 15-Minuten-cAMP-Werte, die denen des Normalenkollektivs vergleichbar waren. Auch Madsen testete 2 hypo- und 6 hyperthyreote Patienten nach durchgeführter Therapie noch einmal und fand jetzt bei den ursprünglich Hypothyreoten glukagoninduzierte cAMP-Konzentrationen, die denen des Normalenkollektivs entsprachen, während er bei den Hyperthyreoten eine gewisse Trägheit in der Abnahme einer einmal induzierten Hyperreaktion des cAMP auf Glukagon feststellte.

Wir konnten in unserer Arbeit mit größeren Kollektiven signifikante Unterschiede in den Reaktionen des Plasma-cAMP auf Glukagon zwischen Hyper- und Hypothyreosen sowie Normalpersonen nachweisen.

Während die hyperthyreoten Patienten einen deutlich stärkeren Plasma-cAMP-Anstieg als die Normalpersonen zeigten, war der der Hypothyreosen signifikant niedriger als der des Vergleichskollektivs, allerdings traten hier Überlappungen der Einzelwerte mit dem Normalbereich auf. Von den hyperthyreoten Patienten, bei denen wir nach thyreostatischer Therapie und Erreichen einer normalen Stoffwechsellage, den Glukagon-Test wiederholten, wiesen alle 18 einen 15-Minuten-cAMP-Anstieg auf, der dem der Normalpersonen entsprach.

Bei allen 7 hypothyreoten Patienten, die wir nach Substitutionstherapie und Anstieg der Schilddrüsenhormon-Werte in den Normbereich erneut testeten, stiegen die glukagonstimulierten cAMP-Spiegel deutlich höher an als vor der Behandlung.

Auch bei den Patienten mit einer blanden Struma fanden wir nach Glukagon-Injektion cAMP-Werte, die denen der Normalpersonen vergleichbar waren. Dies erklärt sich durch die klinisch und laborchemisch normale Schilddrüsen-Stoffwechsellage dieser Patienten.

Folgende Modellvorstellungen versuchen den - in Abhängigkeit von der Schilddrüsen-Stoffwechsellage - unterschiedlichen cAMP-Anstieg nach Glukagongabe zu erklären:

1. Schilddrüsenhormone bewirken über eine Hemmung der Phosphodiesterase - und somit über einen verminderten Abbau des 3',5'-AMP - einen erhöhten cAMP-Spiegel. Dies wurde zunächst von Mandel (24) 1967 auf Grund von in-vitro Versuchen angenommen. Krishna (18), Challoner & Allen (7) und Caldwell & Fain (5) fanden allerdings normale Phosphodiesterase-Spiegel bei hyperthyreoten Patienten, so daß die gesteigerte cAMP-Antwort auf Glukagon wahrscheinlich nicht durch eine verminderte Phosphodiesterase-Aktivität erklärt werden kann.
2. Schilddrüsenhormone beeinflussen die Anzahl der Glukagon-Rezeptoren und bewirken über deren Vermehrung eine Steigerung der Glukagon-Empfindlichkeit. Vor allem Madsen (22) favorisiert diese Vorstellung und sah sich unterstützt durch die Ergebnisse von Krishna (18), nach denen sich die Adenylcyclase-Aktivität selbst nicht mit der Schilddrüsen-Stoffwechsellage ändert.

Guttler erwähnt in seiner Arbeit aus dem Jahre 1975 (14) weitere denkbare Vorstellungen, für die bisher aber noch keine konkreten Forschungsergebnisse vorliegen:

3. Schilddrüsenhormone steigern die Hormon-Rezeptor-Affinität.
4. Schilddrüsenhormone steigern die ATP-Freisetzung am Ort der Konversion zu cAMP.
5. Schilddrüsenhormone stimulieren einen Übermittler in der Zellwand, wie ihn Rodbell (28) für das GTP beschrieben hat.
6. Schilddrüsenhormone steigern die Membran-Permeabilität für cAMP.

Broadus (2) konnte 1970 durch Versuche mit Glukagon-perfundierten Rattenlebern und an hepatektomierten Hunden nachweisen, daß die Leber die Hauptquelle des cAMP-Anstiegs nach Glukagon-Injektion darstellt. Dies wurde 1974 durch Untersuchungen von Liljenquist (21) mittels Blutentnahme aus der Arteria brachialis und einer Lebervene beim Menschen bestätigt.

Auf Grund der genannten Ergebnisse ist zu postulieren, daß bei Patienten mit einer Leberinsuffizienz der Anstieg des cAMP nach Glukagon-Injektion geringer ausfällt.

In Übereinstimmung mit anderen Autoren (8, 22) fanden auch wir bei 4 Patienten mit dekompensierter Lebercirrhose einen deutlich geringeren Anstieg des cAMP als bei Normalpersonen. Dieses Untersuchungsergebnis bestätigt somit die oben zitierten Arbeiten von Broadus und Liljenquist.

Bei einem Patienten mit einem extrahepatischen Verschlußikterus lag der glukagonstimulierte cAMP-Spiegel - trotz subnormaler T_3- und T_4-Werte - deutlich oberhalb des Normbereichs. Dieses Ergebnis stimmt mit den Resultaten von Davies (8) und Francavilla (13) überein und ist möglicherweise durch eine verminderte cAMP-Ausscheidung über die Gallenwege bei extrahepatischem Verschluß erklärbar.

Verschiedene Pharmaka können die Konzentration des cAMP im Plasma, bzw. die cAMP-Antwort auf Glukagon-Injektion beeinflussen. So zeigten Liddle & Hardman 1971 (20) eine Phosphodiesterase-Hemmung durch Coffein und Theophyllin, welche eine Verstärkung der cAMP-Reaktion auf Glukagon zur Folge hat.

Diese Autoren wiesen in ihrer Arbeit außerdem auf eine Abnahme des cAMP-Gehaltes in Leber und Fettgewebe durch Insulin hin.

Ball (1) stellte fest, daß auch die Beta-Rezeptor-Stimulatoren, wie Isoproteronol, Adrenalin und Noradrenalin einen Anstieg des Plasma-cAMP hervorrufen.

DeRubertis (9) zeigte 1974, daß die Prostaglandine E_1 und E_2 einen leichten Anstieg des cAMP auslösen; mit Glukagon gemeinsam infundiert, vermindern sie aber die Glukagon-induzierte cAMP-Reaktion. Der Autor vermutet ein gemeinsames Adenyl-Cyclase-System für Glukagon und die Prostaglandine, wobei letztere als Regelkomponente eine hemmende Funktion bezüglich der Wirkung von Glukagon auf die Leber haben könnten.

Auf Grund unserer Untersuchungsergebnisse stellt der Glukagontest ein einfaches und verläßliches Verfahren dar, das Rückschlüsse auf die Wirkung von Schilddrüsenhormonen an peripheren Geweben ermöglicht. Dabei ist mit diesem Test besonders eine Abgrenzung zwischen normaler und hyperthyreoter Stoffwechsellage möglich, während sich bei Hypothyreosen einige Überlappungen mit dem Normbereich ergaben. Einschränkend muß jedoch gesagt werden, daß die Aussagefähigkeit des Testes bei schweren Leber- und Gallenwegserkrankungen begrenzt ist. Ob dem Test eine größere klinische Bedeutung zukommen kann, läßt sich erst nach Untersuchungen an Patienten, die eine erhebliche Diskrepanz zwischen klinischem Bild und Ergebnis der laborchemischen Bestimmungen aufweisen, beantworten. Die routinemäßige Bestimmung von Serum-T_3 und -T_4 sowie den TRH-Test kann der Glukagon-Test wegen mangelnder Spezifität sicher nicht ersetzen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Zur Beantwortung der Frage, in welchem Maße der Anstieg des cyclischen AMP im Plasma nach Glukagon-Injektion beim Menschen durch die Schilddrüsen-Stoffwechsellage beeinflußt wird, haben wir 26 Normalpersonen, 36 Patienten mit einer Hyper- und 35 mit einer Hypothyreose sowie 24 Patienten mit blander Struma untersucht. Neben Anamnese und klinischem Befund wurden zur Diagnostik von Hyper- und Hypothyreosen noch das T_3, T_4 und TSH im Serum herangezogen.

Allen Testpersonen wurde in nüchternem Zustand nach vorheriger Blutentnahme 1 mg Glukagon in die Cubitalvene injiziert und 15 Minuten später erneut 5 ml Blut zur Bestimmung der cyclischen AMP-Konzentration entnommen. Das Blut wurde sofort nach der Entnahme in vorbereitete Röhrchen mit 50 ul 0,5 M EDTA-Lösung gefüllt und zentrifugiert, das Plasma bis zur Bestimmung des cAMP bei -20° C aufbewahrt. Die Messung des cAMP erfolgte als Doppelbestimmung in einem Proteinbindungs-Assay (Fa. Amersham-Buchler).

Die Basalwerte der cAMP-Konzentration im Plasma waren bei Hyperthyreoten zwar leicht, aber nicht signifikant erhöht gegenüber den Werten bei Hypo- und Euthyreoten.

Nach Glukagon-Stimulation fanden wir bei den Normalpersonen einen mittleren cAMP-Spiegel von 483 pmol/ml. Hypothyreote Patienten wiesen nach Glukagon-Injektion eine mittlere cAMP-Konzentration von nur 229 pmol/ml auf. Bei den hyperthyreoten Patienten stieg das cAMP im Plasma im Mittel auf 871 pmol/ml. Die Unterschiede der cAMP-Konzentrationen nach Glukagon-Injektion zwischen den drei Kollektiven sind hochsignifikant.

Unter einer Substitutionstherapie mit L-Thyroxin bei 7 hypothyreoten Patienten wurde ein deutlich höherer cAMP-Anstieg nach Glukagon-Injektion beobachtet (448 ± 107 pmol/ml) als bei unbehandelten Patienten. Durch eine thyreostatische Therapie bei 18 hyperthyreoten Patienten sanken die glukagon-stimulierten cAMP-Spiegel mit einer Normalisierung der

Schilddrüsenstoffwechsellage deutlich ab (499 $\pm$ 64 pmol/ml). Ein signifikanter Unterschied zu den Normalpersonen bestand nach der Behandlung nicht mehr.

Bei den 24 Patienten mit blander Struma ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zum Normalkollektiv; das cAMP stieg im Mittel auf 469 pmol/ml und entsprach damit den Werten schilddrüsengesunder Kontrollpersonen.

4 Patienten mit dekompensierter Lebercirrhose zeigten stark erniedrigte cAMP-Werte 15 Minuten nach Glukagon-Gabe, während ein Patient mit Verschlußikterus eine deutlich erhöhte Reaktion aufwies.

Der Glukagontest stellt u.E. unter Berücksichtigung der durch schwere Leber- und Gallenwegserkrankungen beeinflußten Resultate einen zusätzlichen Parameter zur Beschreibung der schilddrüsenabhängigen Stoffwechselsituation in der Peripherie dar. Er kann aber die routinemäßige Bestimmung von T_3 und T_4 sowie den TRH-Test wegen mangelnder Spezifität sicher nicht ersetzen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Ball, J.H.; Kaminsky, W.I.; Hardman, J.G.; Broadus, A.E.; Sutherland,E.W.; Liddle, G.W.

Effects of catecholamines and adrenergic-blocking agents on plasma- and urinary cyclic nucleotides in man

Journal of Clinical Investigation, 51, 2124-2129 (1972)

2. Broadus, A.E.; Kaminsky, N.I.; Northcutt, R.C.; Hardman, J.G.; Sutherland, E.W.; Liddle, G.W.

Effects of glucagon on adenosine 3',5'- monophosphate and guanosine 3',5'- monophosphate in human plasma and urine

Journal of Clinical Investigation 49, 2237-2245 (1970)

3. Broadus, A.E.; Hardman, J.G.; Kaminsky, N.I.; et al

Extracellular cyclic nucleotides

Ann NY Acad Sci, 185, 50 (1971)

4. Butcher, R.W.; Sutherland, E.W.;

Adenosine 3',5'- phosphate in biological materials. Purification and properties of cyclic 3',5'- nucleotide phosphodiesterase and use of this enzyme to characterize adenosine 3',5'- phosphate in human urine

J Bio Chem, 237, 1244-1250 (1962)

5. Caldwell, A.; Fain, J.N.

Triiodothymine stimulation of cyclic adenosine monophosphate accumulation in fat cells

Endcrinology, 89, 1193-1204 (1971)

6. Campbell, A.K.; Kane-Maguire, B.

Effect of thyroid hormones on the glucagon-elevated adenosine 3',5'- monophosphate content of mature rat liver in organ culture

Biochemical Society Transactions, 1, 1002-1005 (1973)

7. Challoner, D.R.; Allen, D.O.

An in-vitro effect of triiodothymine on lipolysis, cyclic AMP-C^{14} accumulation and oxygen consumption in isolated fat cells

Metabolism, 19, 480-487 (1970)

8. Davies, T.F.; Prudhoe, K.; Douglas, A.P.
Plasma cyclic adenosine 3',5'-monophosphate response to glucagon in patients with liver disease
Br. Med J, 1, 931-933 (1976)

9. DeRubertis, F.R.; Zenser, T.V.; Curnow, R.T.
Inhibition of glucagon-mediated increases in hepatic cyclic adenosine 3',5'-monophosphate by Prostaglandin E_1 and E_2
Endo, 95, No1, 93-101 (1974)

10. Dich, J.; Gluud, C.N.
Effect of glucagon on cyclic AMP albumin metabolism and incorporation of 14C-leucine into proteins in isolated parenchymal rat liver cells
Acta Physiol. Scand., 97, 457-469 (1976)

11. Elkeles, R.S.; Lazarus, J.H.; Siddle, K.; Campbell, A.K.
Plasma adenosine 3':5'-cyclic monophosphate response to glucagon in thyroid disease
Clinical Science and Molecular Medicine, 48, 27-31, (1975)

12. Exton, J.H.; Park, C.R.
The role of cyclic AMP in the control of liver metabolism
Advan. Enzyme Regul. 6, 391 (1968)

13. Francavilla, A.; Pansini, F.; Albano, O.; Sansone, F.; Martellotta, G.
Effect of glucagon infusion on plasma cyclic AMP in patients with cholestatic hepatitis and obstructive jaundice. New test of hepatic cholestasis
Clin Chim Acta, 75, 351-357, (1977)

14. Guttler, R.B.; Otis, C.L.; Shaw, J.W.; Warren, D.W.; Nicoloff, J.T.
The effect of thyroid hormone on adenyl cyclase - A potential site for thyroid hormone action
in "Thyroid Hormone Metabolism" (Ed.: W.A. Harland), 201-211, (1975)

15. Guttler, R.B.; Croxson, M.S.; De Quattro, V.L.; Warren, D.W.; Otis, C.L.; Nicoloff, J.T.

Effects of thyroid hormone on plasma adenosine 3', 5'-monophosphate production in man

Metabolism, 26, No. 10, 1155-1162, (1977)

16. Jerums, G.; Hardy, K.J.; Eisman, J.A.

The cyclic AMP response to glucagon. Comparison of tissue and plasma cyclic AMP levels in the rabbit

Diabetes, 26, 81-88, (1977)

17. Karlberg, B.E.; Hendriksson, K.G.; Andersson, R.G.G.

Cyclic Adenosine 3'-5'-Monophosphate Concentration in Plasma, Adipose Tissue and Skeletal Muscle in Normal Subjects and in Patients with Hyper- and Hypothyroidism

JCE & M, 39, No 1, 96-101, (1971)

18. Krishna, G.; Hynie, S.; Brodie, B.B.

Effects of thyroid hormones on adenyl cyclase in adipose tissue and on free fatty acid mobilisation

Proc.nat.Acad. Sci. (USA), 59, 884-889, (1968)

19. Lazarus, J.H.; Shetty, K.J.; Siddle, K.

The value of the glucagon induced rise in plasma adenosine 3',5'-cyclic monophosphate in assessing thyroid status

in "Thyroid Research" (Ed.: Robbins, J. et al) 606-609, (1976)

20. Liddle, G.W.; Hardman, J.G.

Cyclic Adenosine Monophosphate as a mediator of hormone action

The New England Journal Of Medicine Vol. 285 No.10, 560-566, (1971)

21. Liljenquist, J.E.; Bomboy, J.D.; Lewis, S.B.; Sinclair-Smith, B.C.; Felts, P.W.; Lacy, W.W.; Crofford, O.B.; Liddle, G.W.

Effect of glucagon on net splanchnic cyclic AMP production in normal and diabetic men

Journal of Clin. Investigation, 53, 198-204, (1974)

22. Madsen, N.S.

Thyroid function and plasma cyclic AMP response to intravenous glucagon

Acta Endocrinologica, 85, 760-768, (1977)

23. Makman, M.H.; Sutherland, E.W.

Use of liver adenyl cyclase for assay of glucagon in human gastrointestinal tract and pancreas

Endocrinology, 75, 127, (1964)

24. Mandel, L.R.; Kuehl, F.A.

Lipolytic action of 3,3',5'-triiodo-L-thyronine, a cyclic AMP phosphodiesterase inhibitor

Biochemicl and Biophysical Research Communications, 28, 13-19, (1967)

25. Rall, T.W.; Sutherland, E.W.; Berthet, J.

The relationship of epinephrine and glucagon to liver phosphorylase. IV.Effect of epinephrine and glucagon on the reactivation of phosphorylase in liver homogenates

J.Biol.Chem, 224, 463, (1957)

26. Reimann, E.M.; Brostrom, C.O.; Corbin, J.D.

Separation of regulatory and catalytic subunits of the 3',5'-adenosine monophosphate dependent protein kinase of rabbit skeletal muscle

Biochem Biophys Res Commun, 42, 187-194, (1971)

27. Robinson, G.A.; Exton, J.H.; Park, C.R.; Sutherland, E.W.

Effect of glucagon and epinephrine on cyclic AMP levels in rat liver

Fed. Proc., 26, 257, (1967)

28. Rodbell, M.; Lin, M.C.; Salomon, Y.

Evidence for interdependent action of glucagon and nucleotides on the hepatic adenylate cyclase system

Journal of Biological Chemistry, 249, No.1, 59-65, (1974)

29. Sutherland, E.W.; Robinson, G.A.

The role of cyclic-3',5'-AMP in responses to catecholamines and other hormones

Pharmacol Rev, 18, 145-161, (1966)

30. Wehmann, R.E.; Blonde, L.; Steiner, A.

Sources of cyclic nucleotides in plasma

Journal of Clinical Investigation 53, 173-179, (1974)

Herrn Professor Dr. J. Herrmann danke
ich für die freundliche Überlassung
des Themas und für die zahlreichen
Anregungen und Ratschläge.

Herzlich danken möchte ich auch
Herrn Dr. W. Jäckel für seine
freundschaftliche Unterstützung.

LEBENSLAUF

Am 25. Januar 1953 wurde ich als Sohn des städtischen Beamten Hermann Heimes und seiner Ehefrau Helmi - geb. Stawniak - in Wetter (Ruhr) geboren.

Die Volksschule besuchte ich von 1959 bis 1963 und wechselte dann auf das Städt. Gymnasium Wetter, mathematisch-naturwissenschaftl. Zweig. Im Jahre 1971 legte ich hier die Reifeprüfung ab.

Im Sommersemester 1972 begann ich das Studium der Human-Medizin an der Universität Düsseldorf. Nach Ableistung des Praktischen Jahres in Krefeld bestand ich im Mai 1979 mein Staatsexamen und erhielt mit Datum vom 22. Juni 1979 meine Approbation.